

KATSEKLAASITAIMEDE REAKTSIOON KARTULI LEHEMÄDANIKU TEKITAJALE – *PHYTOPHTHORA INFESTANS* (MONT.) D BY.

V. Rosenberg, P. Talvoja, E. Kusma

Kartuli meristeemtaimede kasvatamine katseklaasis ehk *in vitro* taimedena toitesegul võimaldab neid paljundada mikropistikutega, millega kantakse edasi taime pärlilikud omadused (Rosenberg, 1999). Sellised *in vitro* taimed võivad olla mudeliks peremeestaimede ja haigustekitaja vaheliste seoste uurimisel (Dyakov jt., 1979), kuna nad säilitavad katseklaasitaimena omaduse olla vastuvõtlik või haiguskindel seene *Phytophthora infestans* suhtes. Haigustekitaja ja katseklaasis kasvava peremeestaimede kokkuviiimine kutsub kokkupuutepunktis esile muutusi, nagu:

- nakatumine või mittenakatumine;
- mittenakatumud taime vastureaktsioon ehk nn hüpertundlikkus;
- nakatumud rohelisel taimel seeneniidistiku ja sporulatsiooni ilmumine;
- taimerakkude nekroos ja taimekudede edasine hävimine seene elutegevuse mõjul;
- haigustekitaja ja taime nakatumiseta koosolemine.

Materjal ja meetodika

Phytophthora infestans eraldati puhaskultuuri Eesti Põllumajandusülikooli Taimebiotehnoloogia Uurimiskeskuses EVIKA katsepõllult kogutud pruunmädanikunakkusega mugulatest (tabel 1). Taimede inokuleerimiseks valmistati spooride suspensioon 10–12 päevasest rukkiagaril kasvanud kultuurist. Spoorid eraldati destilleeritud steriilse vee ja filtreerimisel läbi kahekordse marli; kontsentratsioon viidi 25–50-ni mikroskoobi vaateväljas (120×). Zoosporide eraldamiseks hoiti suspensiooni pool tundi 10–12 °C juures.

Tabel 1. Isolaatide päritolu

Table 1. The origin of isolations

Isolaadi nr. No. of isolate	Sort, millest isoleeriti / <i>Cultivar from which the isolation was obtained</i>	Isoleerimisaasta Year of isolation
1	Ando	1998
2	Berber	1998
3	Bintje	1998
4	Ere	1998
5	Kondor	1998
6	Lasunak	1998
7	Sarme	1998
8	Saturna	1998
9	Folva*	1999
10	Folva*	1999

*) Isoleeriti erinevatelt mugulatelt

Katseklaasitaimed kasvatati mikropistikutest Teaduskeskuses EVIKA kasutusele võetud kartulitaimede paljundamise toitesegul (Rosenberg, 1984). Taime inokuleerimiseks viidi lehele Pasteuri pipetiga tilk spooride suspensiooni.

Tulemused ja arutelu

Inokuleeritud taimedel ilmnisid nakatumise tunnused 2 kuni 5 päeva pärast. Rohelisele taimel tekkis seene *Ph. infestans* sporulatsioon, mis ei põhjustanud veel peremeestaimede rakkude hävimist – nekroosi. See tekkis 1–3 päeva pärast. Selle perioodi pikkuse järgi (arvestatakse tundides) saab otsustada sordi resistentsuse üle (Berggren *et al.*, 1988). Omapärane nähtus ilmnis sordil 'Sarme' – taime lehele spooride tilga kohas tekkis iseloomulik kirju laik. Seal leidis haigustekitaja üksikuid sporeid, kuid haigus edasi ei arenenud. See on tunnusteks hüpertundlikkusele, kus koos sinna tunginud haigustekitajaga hävivad peremeestaimede rakud.

Kui erineva genotüübiga ühe kuni kolme resistentsusgeeni sortide kasutamisel rasside määramiseks nakatusid eeltoodud tabelis esitatud *Ph. infestans* isolaatidega kõik taimed või kõik peale ühe, siis nelja resistentsusgeeniga (R₁R₂R₃R₄) sort 'Sarme' nakatus kümnest meie poolt eraldatud isolaadist (tabel 1) vaid kolmest – 3; 4 ja 6-ga.

Teaduskeskus EVIKA kartuli meristeemtaimede paljundamise toitesegul kasvab ka *Ph. infestans* puhas-kultuur. Kuid rukkiagariga võrreldes kasvab kartuli toitesegul hõre mütseel, mis ei moodusta sporangiospoore.

Meristeemtaime inokuleerimisel satub osa *Ph. infestans* spore taime kõrvale agari pinnale, kus ta mõne aja möödudes moodustab vatitombu taolise seenekogumi (Rosenberg jt., 1996). Ilmselt meristeemtaime juurtega kokkupuute tõttu saadud mõjutusel arenevad seenel eoskandjad ja sporangiospoorid. Tombu mõõtmed on seda suuremad, mida haigusele vastuvõtlikum on sort. Eriti lopsakas on see sort 'Bintje' puhul, seevastu sordil 'Sarme' on see väiksem. Nende isolaatide puhul, mis 'Sarmet' ei nakata, ei moodustu üldse seenekogumi tompu, kuid agari pinnalt võib siiski üksikuid sporangiospoore eraldada. Mõnel juhul on see vaid silmaga märgatav kirme. See nähtus annab kinnitust seene olemasolu kohta ja taime antibiootilisest võimest selle mahasurumisel.

Eelpool käsitletud *Ph. infestans* seenetomp agari pinnal loob keskkonna, kus meristeemtaim on vahetus kokkupuutes haigustekitajaga. Sellistes tingimustes osa taimi nakatub ja hävib, kuid osa taimi sama päritoluga ja sama haigustekitaja isolaadi puhul jääb nakatumata, olgugi, et kasvab seenekogumi sees. Näiteks sordil 'Olev', millel isolaadiga 1 moodustus kolme taime ümber seenetomp, nakatus ja hävis täielikult ainult üks taim, ülejäänud kaks olid samades tingimustes, kuid ei nakatunud. Sama täheldati ka sordiga 'Rector', kus kasutati isolaati 2.

Edaspidises töös on vaja terveks jäänud taimedest biotehnoloogia võtteid kasutades kasvatada taimed ja ontogeneesi erinevatel etappidel jälgida nende immunoloogilisi omadusi, et kontrollida võimalikku hüpoteesi omandatud immunsuse ilmumise kohta.

Biotehnoloogia võimaldab katseklaasitaimede näol steriilse kultuuri tingimustes uurida kartulisortide ja meristeemkloonide immunoloogilisi omadusi, teha selle alusel valikut ja kavandada võimalused nii sordiaretuses kui seemnekasvatuses olemasoleva taimmaterjali resistentsuse suurendamiseks.

Kirjandus

- Berggren, B., Widmark, A.-K., Umaerus, V. The expression of general resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in potato leaves. – Potato Research, vol. 31, No. 4, p. 611...616, 1988.
- Дьяков jt.: Дьяков Ю. Г., Терехова В. А., Радзиевская М. Г. Взаимоотношения возбудителя фитофтороза – *Phytophthora infestans* (Mont.) d BY. с протопластами мезофилла картофеля. – Микология и фитопатология, том 13, №4, с. 321...326, 1979.
- Rosenberg: Росенберг В. Технология оздоровления и размножения семенного картофеля разработанного в Эстонском НИИ земледелия и мелиорации. – Научные труды ЭНИИ, Защита растений, 8, Таллин, с. 70...89, 1984.
- Rosenberg, V. Taimekoekultuurid. Koekultuurid sordiaretuses. Taimekoekultuurid. – Harku, lk. 120...129, 1999.
- Rosenberg, V., Talvoja, P., Lõhmus, A., Meristeemkloonide uurimise tulemusi Eesti Taimebiotehnika Uurimiskeskuses EVIKA. – Põllumajandus, nr. 7/8, lk. 9...11, 1996.

The Reaction of Test-tube Plants on the Potato Late Blight Pathogene – *Phytophthora infestans* (Mont.) d BY

V. Rosenberg, P. Talvoja, E. Kusma

Summary

The test-tube-plant with the fungus *Phytophthora infestans* creates in the test-tube an association, which serves as a model for the research on the connections between the host-plant and the pathogene. In case of the inoculation with the suspension of the pathogene spores, the disease symptoms in the plant will be revealed in 2–5 days in the form of sporulation. After that, the necrosis of the sells of the host-plant at the place of sporulation will take more days and its duration (in hours) will be an evidence of the general resistance of the cultivar. The pathogene grows on the agar for frowing potato plants, but it will form sporangiospores in the test-tube, growing together with the plant. In addition to that, on the agar surface in the test-tube the fungus *Ph. infestans* will form a cotton-wool-like lump, which will be the larger, the more susceptible to the disease a cultivar is. On the cultivar, which is protected by the resistance-genes (variety 'Sarme'), the fungus-lump will not be formed, but on the agar surface around the plant roots, there may be observed single sporangiospores of the fungus, or a coating by the fungus, which may be seen by the naked eye. Under the same conditions, one part of the plants in the fungus-lump will completely survive, while the other plant will perish. These plants that survive, may be the carriers of the acquired immunity.